Standar Nasional Indonesia

SNI 01-2895-1992

Cara uji pewarna tambahan makanan

ICS 67.220.20

Badan Standardisasi Nasional BSN

Daftar isi

Cara uji pewarna tambahan makanan

1 Persiapan contoh

Persiapan contoh disesuaikan dengan SNI 01-2891-1992, *Cara uji makanan dan minuman,* butir 4.

2 Uji kualitatif

2.1 Metode kromatografi kertas menggunakan benang wol.

2.1.1 Prinsip

Penyerapan zat contoh benang wol dalam suasana asam dengan pemanasan, dilanjutkan dengan pelarutan benang wol yang telah berwarna.

Larutan zat warna dalam amonia yang telah dipekatkan diidentifikasi secara kromatografi kertas dengan zat warna makanan sebagai standar.

2.1.2 Peralatan

a) Gelas piala 10 ml, 100 ml, 250 ml.
b) Pengaduk kaca.
c) Kertas saring.
d) Bejana kromatografi.
e) Penangas air.
f) Benang wol bebas lemak.
g) Kertas saring biasa.
h) Kertas saring Whatman No. 1.

2.1.3 Pereaksi

a) Asam asetat glasial p.a
b) Larutan asam asetat 6 %
c) Amonia NH_4OH, B.j. 0,88
d) Larutan standar zat warna makanan
e) Larutan elusi (pilih salah satu)

Larutan elusi I : campuran perbandingan volume n butanol asam asetat glasial air = 4:5:1.
Larutan elusi II : campuran perbandingan volume iso butanol : etanol : air = 3:2:2.
Larutan elusi III : larutan NaCl 2 % dalam alkohol 50 %.
Larutan elusi IV : campuran perbandingan volume etil metil keton : asetat: air = 7:3:3
Larutan elusi V : campuran perbandingan volume n. butanol : asam asetat : glasial air =

4 : 2 : 2,4

Larutan elusi VI : campuran perbandingan berat fenol : air = 4 : 1

Larutan elusi VII : campuran perbandingan volume etil metil keton : asetat piridin : air =11 : 5 : 4.

Larutan elusi VIII : campuran perbandingan volume etil metil keton : aseton air amonia pekat = 3,5 : 1,5 :

Larutan elusi IX : encerkan 5 ml amonia pekat (Bj = 0,88) dengan air hingga 100 ml, tambahkan 2 gram trinatrium sitrat ke dalam larutan amonium tersebut.

2.1.4 Cara kerja

2.1.4.1 Persiapan benang wol bebas lemak

Ekstrak/rendam benang wol dengan eter atau petroleum.

2.1.4.2 Penarikan warna dengan benang wol

a) Minuman tak beralkohol (misalnya minuman ringan)

Minuman tak beralkohol umumnya sudah bereaksi asam, hingga dapat langsung dilakukan penarikan zat warna dengan benang wol. Jika reaksinya tidak asam, harus diasamkan sedikit dengan penambahan asam asetat atau kalium hidrogen sulfat ($KHSO_4$).

Contoh yang diperiksa 30 - 50 ml.

b) Minuman beralkohol (misalnya anggur)

Didihkan dahulu untuk menghilangkan alkoholnya, lalu periksa keasamannya. Jika perlu asamkan dengan asam asetat atau kalium hidrogen sulfat ($KHSO_4$) dahulu, sebelum zat warnanya ditarik dengan benang wol.

Contoh yang diperiksa 30 - 50 ml.

c) Makanan yang larut (misalnya selai, kembang gula, gula serbuk)

Larutkan dalam air, lalu periksa keasamannya. Jika perlu, asamkan dengan asam asetat atau kalium hidrogen sulfat ($KHSO_4$).

Contoh yang diperiksa 30 - 50 gram.

d) Makanan dengan komponen utama pati (misalnya roti, biskuit, kue-kue "*custard powder, golden raising powder*").

Geruslah 10 gram contoh hingga rata dengan penambahan 50 ml larutan amonia 2 % di dalam etanol 70 %. Biarkan untuk beberapa lama, lalu pusingkan.

Pindahkan cairan ke dalam cawan porselin dan uapkan di atas penangas air. Larutkan residu dalam air yang telah ditambah sedikit asam asetat. Tarik zat warna dengan benang wol.

Contoh yang diperiksa 20 gram

e) Manisan buah-buahan

Lakukan seperti petunjuk untuk makanan dengan komponen utama pati..

f) Makanan yang mengandung banyak lemak (misalnya sosis, daging, terasi ikan)

1) Sosis

Campurkan baik-baik 20 gram contoh yang telah dihaluskan dengan 14 ml air, 25 ml etanol dan 1 amonia B.j. 0,88. Biarkan selama 30 menit, saring lalu pekatkan cairannya

2) Terasi ikan (*fish paste*)

Campur baik-baik 20 gram contoh dengan 6 ml air, 20 ml aseton dan 1 tetes amonia B.j. 0,88 pusingkan, dan uapkan asetonnya di atas penangas air. Hilangkan lemak dengan petroleum benzen.

g) Masukkan benang wol secukupnya ke dalam contoh yang sudah dipersiapkan tadi. Panaskan di atas api sambil diaduk-aduk selama 10 menit. Ambil benang wol, cuci berulang-ulang dengan air hingga bersih.

h) Masukkan benang wol ke dalam gelas piala 100 ml. Tambahkan larutan amonia encer. Panaskan di atas penangas air hingga zat warna pada benang wol luntur. Ambil benang wolnya, saring larutan berwarna tersebut dan pekatkan di atas penangas air

i) Pekatan totolkan pada kertas kromatografi, juga totolkan zat warna pembanding yang cocok (maksudnya jika larutan pekatan berwarna merah gunakan zat warna pembanding merah)

j) Masukkan kertas tersebut ke dalam bejana kromatografi yang terlebih dahulu sudah dijenuhkan dengan uap elusi (pilih salah satu elusi yang cocok, lihat butir 2.1.3).

k) Bandingkan Rf bercak contoh dengan Rf bercak standar.

CATATAN:

1) Zat warna yang larut dalam minyak akan memberi warna pada pelarut organik. Kalau ada kesukaran maka gunakan larutan 50-90 % aseton atau alkohol yang mengandung 2 % amonia yang sedikit dihangatkan (dalam hal ini pati akan mengendap). Pelarut organik harus dihilangkan dahulu sebelum diasamkan.
2) Jarak rambatan elusi = 12 cm, penotolan + 2 cm dari tepi bawah kertas.
3) Untuk warna merah yang sukar dibebaskan dari benang wol dengan larutan amonia, gunakan pelarut alkohol 50 % sebagai pengganti amonia. Totolkan contoh dengan eluen III Bila Rf = 1 berarti bahwa zat warna tersebut adalah *Rhomadin B*.

2.2 Metode menggunakan kolom poliamida

2.2.1 Metode I

2.2.1.1 Prinsip

Penyerapan zat warna contoh oleh poliamida dilanjutkan dengan pelarutan zat warna yang telah bebas dari pengotor dalam NaOH metanolat. Pada pH tertentu dan setelah pekatan, pembandingan zat warna contoh dengan zat warna standar dilakukan secara kromatografi kertas.

2.2.1.2 Peralatan

a) Kolom kromatografi
b) Gelas ukur

c) Buchi rotavapor atau yang sejenisnya.
d) Bejana kromatografi
e) Pemanas listrik/teklu
f) Batang pengaduk
g) Kertas saring
h) Kertas saring Whatman no. 1

2.2.1.3 Pereaksi

a) Aseton
b) NaOH metanolat
c) Larutan standar zat warna
d) Larutan elusi (lihat 2.1.3)
e) Larutan asam asetat metanolat

2.2.1.4 Cara kerja

a) Contoh cairan

Ambil 25 ml contoh, masukkan ke dalam kolom poliamida sepanjang 2 cm. Cuci zat pewarna yang terserap dengan 5 ml aseton sebanyak 5 kali dan kemudian tuangkan air panas sebanyak 5 kali dan kemudian tuangkan 5 ml air panas sebanyak 5 kali untuk menghilangkan pengotor, yaitu gula, asam dan sebagainya. Elusi dengan 20 ml NaOH metanolat untuk melepas zat pewarna. Atur pH larutan yang diperoleh menjadi 5 - 6 dengan cara menambahkan larutan asam asetat metanolat. Uapkan larutan metanolat dengan alat buchi rotavapor menjadi 1 ml. Selanjutnya lakukan seperti cara 2.1.4.2 butir i dan seterusnya.

b) Contoh padatan atau pasta

Timbang dengan seksama 10 gram contoh, larutkan dalam 25 ml air panas. Selanjutnya lakukan seperti cara a).

2.2.2 Metode II

2.2.2.1 Prinsip

Penyerapan zat warna oleh poliamida, dilanjutkan dengan pelarutan zat warna dengan NaOH-metanol.

Pada pH tertentu dan setelah pekatan, pembandingan zat warna contoh dengan zat warna standar dilakukan secara kromatografi.

2.2.2.2 Peralatan

Tabung mikro kromatografi 15 x 150 mm dengan ukuran bagian bawah 3 x 100 mm.

2.2.2.3 Pereaksi

a) Serbuk poliamida
b) Metanol-natrium hidroksida Larutkan 1 gram NaOH dalam metanol 70 % encerkan

sampai 1 liter.

c) Metanol-asam asetat
Campurkan 100 ml metanol dengan 100 ml asam asetat glasial.

d) Karboksi metil CM selulosa.

e) *Whatman ion exchange cellulosa* CM 22

f) Metanol-amonia
Campurkan 95 ml metanol dengan 5 ml amonia (B.j. 0,88)

g) Celite 545

2.2.2.4 Cara kerja

a) Makanan yang larut atau sedikit larut dengan air
    1) Hangatkan sejumlah contoh lebih kurang 5 gram dengan air. Asamkan dengan beberapa tetes asam asetat, kemudian saring dengan bulu kaca (glass wool).
    2) Kocok saringan beberapa kali dengan 1 gram poliamida bila supernatan masih berwarna tambahkan lagi 0,5 gram poliamida.
    3) Masukkan poliamida ke dalam tabung mikro 15 x 150 mm, dengan ukuran bagian bawah 3 x 100 mm.
    4) Tutup bagian bawah tabung dengan bulu kaca (glass wool) dan biarkan cairan menetes
    5) Elusi poliamida dengan 10 ml air panas sebanyak 6 kali, dan 5 ml aseton sebanyak 3 kali sekali - sekali, agitasi poliamida dengan pengaduk. Aseton akan menghilangkan warna yang bersifat basa sedangkan warna sintetik yang bersifat asam akan tertinggal dan terserap poliamida bersama zat warna alam tertentu.
    6) Elusi poliamida dengan 5 ml metanol - NaOH sebanyak 2 kali. Eluen ditampung dan diatur pHnya menjadi 5 - 6 dengan penambahan metanol-asam asetat. Tambahkan 10 ml air dan 0,5 gram poliamida dan masukkan ke dalam tabung mikro yang lain. Poliamida dicuci dengan air panas, sampai air yang keluar dari tabung mempunyai pH sama dengan air
    7) Elusi dengan 10 ml larutan metanol-NaOH dan eluen diasamkan dengan asam asetat, kemudian uapkan dan kerjakan seperti pada 2.1.4.2.i.
    8) Untuk zat yang bersifat basa, pindahkan ke dalam tabung mikro yang mengandung 1 gram *cation exchange resin*, biarkan beberapa menit dan elusi dengan 5 ml air panas sebanyak 5 kali. Kemudian elusi dengan 3 bagian metanol - asam asetat sebanyak 2 kali, eluen dipekatkan dan dikerjakan seperti pada bagian 2.1.4.2.i.

b) Makanan berpati.
    1) Aduk 10 gram contoh dengan 50 ml metanol-amonia, biarkan pati mengendap dan saring dengan wol gelas.
    2) Saringan diatur pHnya menjadi 5 - 6 dengan asam asetat, encerkan dengan air dan tambahkan 1 gram poliamida.
    3) Selanjutnya kerjakan seperti pada bagian 2 1.4.2.i dan 2.2.2.4. a.5.

c) Makanan berlemak
   1) Haluskan 10 gram contoh dengan 3 gram pasir yang telah dicuci dengan asam, 7 gram celite dan 20 ml aseton dalam lumping.
   2) Tuangkan cairannya dan ekstrak lemak dengan aseton beberapa kali (bila perlu gunakan aseton ini seperti pada bagian 2.2 2.4.a.5).
   3) Sisa contoh dalam lumpang dimasukkan ke dalam tabung mikro khromatografi, elusi dengan 5 ml metanol - amonia sebanyak 2 kali untuk membebaskan zat sebanyak warna.
   4) Encerkan eluen dengan 40 ml air dan atur pH menjadi 5-6 dengan asam asetat, kemudian tambahkan 1 gram poliamida.
   5) Kerjakan selanjutnya seperti pada bagian 2.22.4.a.5 dan 2.1.4.2.i.

3 Metode TLC scanner

3.1 Prinsip

Sinar yang melalui bercak pada panjang gelombang tertentu akan diubah oleh detektor menjadi sinyal listrik dan dicatat oleh rekorder sebagai puncak-puncak tertentu. Dengan bantuan kalibrasi standar, kandungan zat warna dalam contoh dapat ditetapkan.

3.2 Peralatan

TLC scanner.

3.3 Pereaksi

Lihat uji zat warna kualitatif (2.1.3 atau 2.2.1.3).

3.4 Cara kerja

a. Scan bercak yang terjadi pada kertas kromatografi dengan menggunakan TLC scanner dalam kondisi tertentu.
b. Luas puncak yang diperoleh diubah menjadi konsentrasi dengan kalibrasi standar

CATATAN:
Untuk tujuan kuantitaif penimbangan/ pengukuran contoh harus teliti dan penotolan contoh pada kertas harus tepat jumlahnya. Banyaknya penotolan umumnya 2 ml.
Catatan untuk vitamin B
1) Ekstraksi cair ---------------- Spektrofotometer.
2) Poliamida -------------------- Densitometer.